

**Význam peroperační detekce sentinelových lymfatických uzlin
pro léčebnou strategii karcinomu děložního hrdla a vulvy.
Stanovení prognostického významu submikroskopického postižení
uzlin pomocí imunohistochemického určení přítomnosti
cytokeratinu.**

Doktorská disertační práce

Autor: MUDr. Marek Pluta

OPONENTSKÝ POSUDEK

Oponent: doc.MUDr. Zdeněk Rokyta, CSc.

MUDr. Marek Pluta předložil doktorskou disertační práci, jejíž téma je vysoce aktuální.

Detekce sentinelových uzlin je jedním z nejperspektivnějších postupů, který může pomoci bezpečnější individualizované péči o pacientky. Sentinelové uzliny jsou ty, které jsou přímo drenovány z oblasti primárního nádoru. Z gynekologických zhoubných nádorů se zabývá nejvíce prací detekcí sentinelových uzlin vulvy, přibývá prací o detekci sentinelových uzlin u karcinomů děložního hrdla.

Autor si vytýčil dva cíle práce:

1. Prognostický význam peroperační a pooperační detekce sentinelových uzlin u karcinomů vulvy. Význam stanovení mikrometastáz.

Vyhodnotit jednotlivé experimentální metody detekce sentinelových uzlin a vypracovat optimální časování protokolu aplikace. Vyhodnotit detekční schopnost metody, senzitivitu, specificitu a rizika falešné negativy. Analyzovat distribuci – topografii v inguinofemorální oblasti. Vyhodnotit peroperační histopatologické zpracování a porovnat výsledky s definitivním zpracováním sentinelových a nesentinelových uzlin.

Vyhodnotit přínos imunohistochemického zpracování pro detekci mikrometastáz širokospektrou protilátkou proti cytokeratinu.

2. Prognostický význam peroperační a pooperační detekce sentinelových uzlin u častých stadií karcinomů děložního hrdla. Význam stanovení mikrometastáz.

Vyhodnotit jednotlivé experimentální metody detekce sentinelových uzlin a vypracovat optimální časování protokolu aplikace. Vyhodnotit detekční schopnost metody. Analyzovat distribuci – topografii sentinelových uzlin. Vyhodnotit peroperační histopatologické zpracování a porovnat výsledky s definitivním zpracováním sentinelových a nesentinelových uzlin. Vyhodnotit přínos imunohistochemického zpracování pro detekci mikrometastáz širokospektrou protilátkou proti cytokeratinu. Ověřit klinickou využitelnost detekce sentinelových uzlin k redukci radikality operační léčby u časných stadií karcinomů děložního hrdla (LAP II protokol).

Cíl 1.

Zhoubné nádory vulvy jsou relativně méně častým onemocněním vyžadujícím individualizovaný přístup k léčbě. Komplexní inguinofemorální lymfadenektomie je do dnešní doby stále standardním postupem zatíženým poměrně vysokou krátkodobou a dlouhodobou morbiditou.

Do projektu bylo zařazeno 38 žen splňujících vstupní kritéria (spinocelulární karcinom, stadium T1b a T2 < 4 cm, multifokální léze nepřesahující 4 cm, klinicky nesuspektní uzliny v inguinofemorální oblasti, podepsaný informovaný souhlas) u kterých byla použita technika kombinace radiokoloidu a patentové modři.

Lymfatické uzliny s metastatickým postižením byly detekovány u 14 z 38 žen (36.8 %). Pouze v sentinelové uzlině bylo detekováno postižení u 9 žen. U 5 žen byla metastáza kromě sentinelové uzliny i dalších 1 až 3 uzlinách. U jedné ženy seriové prokrájení prokázalo metastázu sentinelové uzliny do velikosti 2 mm a u jedné ženy byly v sentinelové uzlině imunohistochemicky prokázány izolované nádorové buňky.

Základním originálním poznatkem pro poznání problematiky in vivo drenáže byly poznatky o distribuci sentinelových uzlin. U hlubokých femorálních uzlin bylo identifikováno 16.1 % sentinelových uzlin. To vysvětluje, že nestačí odstranit pouze superficiální systém, ale že 10 – 15 % sentinelových uzlin se nachází v hlubokém systému, kdy pouhé provedení

superficiální lymfadenektomie vede k více než 10 % nárůstu časných recidiv v inguinofemorální oblasti.

Kombinace radiokoloidu a modři je jednoznačně nejsenzitivnější metodou. Bylo dosaženo 100% detekce na pacientku a 96 % detekce na stranu. U karcinomu vulvy byla konsenzem expertů v únoru 2008 v Sydney doporučena detekce a exstirpace sentinelové uzliny jako alternativa standardní inguinofemorální lymfadenektomie. Předložená publikace z pracoviště autora byla jednou z 10 prací, která byla experty vybrána jako metodicky zcela vyhovující.

V současné době jsou karcinomy vulvy po karcinomech prsu a melanomech třetí lokalizací, u které je možno akceptovat za jasně definovaných podmínek koncept sentinelové uzliny jako standard léčby. Tento postup výrazně snižuje časnou a pozdní morbiditu a je významným příspěvkem pro rutinní klinickou praxi. Podmínkou je, aby byl výkon prováděn v onkogynekologických centrech, které mají zkušenosti s identifikací sentinelových uzlin.

Cíl 2.

Karcinomy děložního hrdla jsou onemocněním u kterých je standardní operační léčba časných stadií spojená s hysterektomií, resekcí parametrií, proximální části pochvy a pánevní lymfadenektomií a přináší významnou poléčebnou morbiditu. Tento fakt je alarmující, protože u časných stadií je v mnoha případech tato razantní operační léčba overtreatment. Detekce sentinelové uzliny a její peroperační zpracování by mohlo hrát významnou roli v redukci radikality operační léčby a následně v redukci pooperačních komplikací.

V mezinárodních publikacích je uvedeno velké množství protokolů identifikace sentinelových uzlin, různé časování aplikace a různé detekční látky. V předložené práci pro vyhodnocení distribuce sentinelových uzlin byly použity výsledky pilotních studií se 183 karcinomy, které byly publikovány a do projektu bylo nově zařazeno v letech 2005 – 2007 dalších 166 žen. Bylo hodnoceno celkem 339 žen s 915 sentinelovými uzlinami. Data byla vedena dle protokolu LAP I (prospektivní studie mapování sentinelových uzlin s použitím kombinace radiokoloidu technecia a patentové modři u časných stadií invazivních karcinomů). Pro ověření klinického využití detekce sentinelových uzlin k redukci radikality operační léčby u časných stadií karcinomu děložního hrdla byl etickou komisí FN Motol schválen v roce 2000 protokol léčby (LAP II).

Jako jediná na světě prospektivní práce z pracoviště autora sledovala závislost postižení parametrií při negativních sentinelových uzlinách. Při negativních sentinelových uzlinách u časných nádorů autoři neprokázali infiltraci parametrií. Obráceně, při pozitivních sentinelových uzlinách stoupá riziko postižení parametrií až na 28 %.

Pooperační morbidita je vázána nejen na samotný rozsah resekce, ale i na množství odebraných uzlin. Při množství větším než 25 výrazně stoupá riziko lymfedému. Proto ve 2. skupině po získání větších zkušeností a pilotních výsledcích autoři redukovali počet odebraných lymfatických uzlin. Kombinace radiokoloidu a patentové modři je jednoznačně nejsenzitivnější metodou detekce sentinelové uzliny. Předložený protokol detekce sentinelových uzlin je v porovnání s ostatními publikovanými protokoly vysoce efektivní a u nádorů pod 2 cm byla dosažena detekce 99%. Aktuální benefit detekce sentinelových uzlin spočívá v identifikaci nejrizikovější lymfatické uzliny pro výskyt metastáz a její zpracování ultramikrostagingem. Peroperační histopatologické zpracování je stále kontroverzní a představuje dle literárních údajů cca 10% riziko pro falešně negativní výsledky. Detekce sentinelové uzliny je velmi slibným momentem a je nezbytnou součástí konzervativních, fertilitu zachovávajících operací a výkonů spojených s redukcí radikality operační léčby.

Přínos IHC vyšetření cytokeratinem v předloženém souboru nemělo žádný klinicky relevantní přínos. Autor považuje sériové zpracování s vyšetřením HE v dnešní době za dostačující k detekci mikrometastáz.

Předložené závěry práce s uvedením diagnostických a léčebných algoritmů považuji za originální a uzavírám, že autor uvedené cíle své práce splnil.

Vlastní práce je členěna do 9ti kapitol se subkapitolami.

Celá disertační práce je prezentována na 44 stranách, k tomu jsou přiloženy publikace. Vlastní práce je na 38 stranách včetně anglického souhrnu, literatura na 6 stranách. Literární odkazy obsahují 54 citací - z toho je 9 českých. V seznamu prací publikovaných k tématu disertační práce je uvedeno 9 prací, z toho 3 práce v české literatuře, 6 prací je v zahraniční literatuře, všechny s IF. MUDr. Marek Pluta je prvním autorem u nejnovější práce publikované v *Gynecol. Oncol.* 2009 s IF 2.614, u ostatních prací je vždy spoluautorem. Práce je též částí výstupů sedmi grantových projektů.

Práce je kompaktní, věcně i formálně přehledně vypracovaná se 6ti tabulkami a 14ti obrázky, které výstižně doplňují text. Zpracování práce a použité metody svědčí o schopnostech autora k samostatné tvořivé vědecké práci. Prostudovaná literatura a předchozí publikace autora jsou dokladem hluboké znalosti problematiky. Práce je čtivá s dobrou jazykovou úrovní.

Použitá metodika a celistvé pojetí této problematiky bude jistě návodem a podnětem pro další pracoviště, která se touto problematikou zabývají.

Závěr

Předložená disertační práce MUDr. Marka Pluty „Význam peroperační detekce sentinelových lymfatických uzlin pro léčebnou strategii karcinomu děložního hrdla a vulvy. Stanovení prognostického významu submikroskopického postižení uzlin pomocí imunohistochemického určení přítomnosti“ plně vyhovuje kritériím na disertační doktorskou práci a prokazuje hluboké znalosti teoretické i klinické, způsobilost autora k vědecké práci a přináší i některé nové vědecké poznatky.

Doporučuji tuto disertační práci k obhajobě a rovněž doporučuji, aby na základě úspěšné obhajoby byl jejímu autorovi udělen titul Ph.D.

V Plzni dne 6.8. 2009

Doc.MUDr. Zdeněk Rokyta,CSc.
přednosta Gynekologicko-porodnické kliniky
LF UK a FN v Plzni